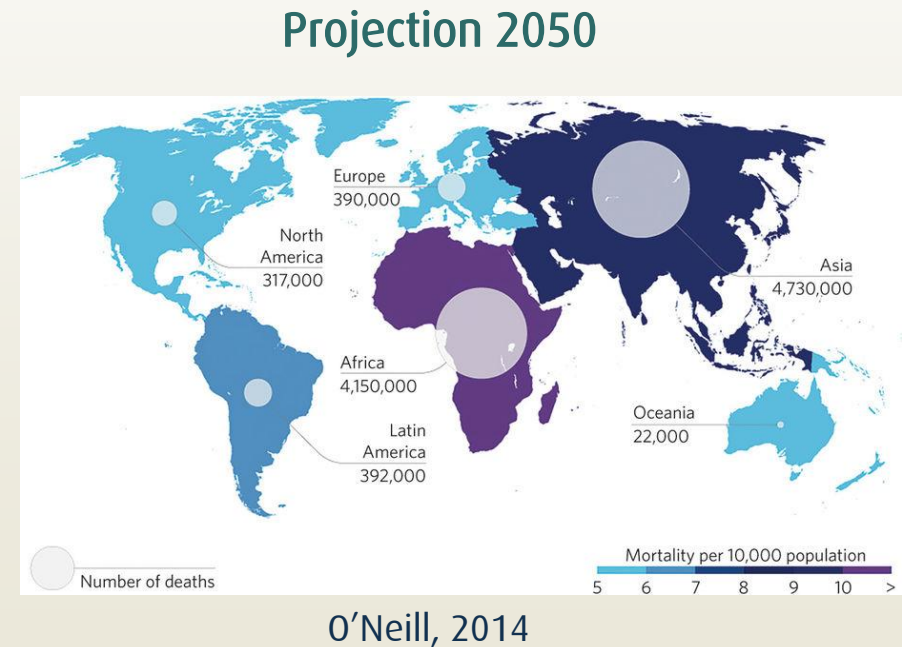
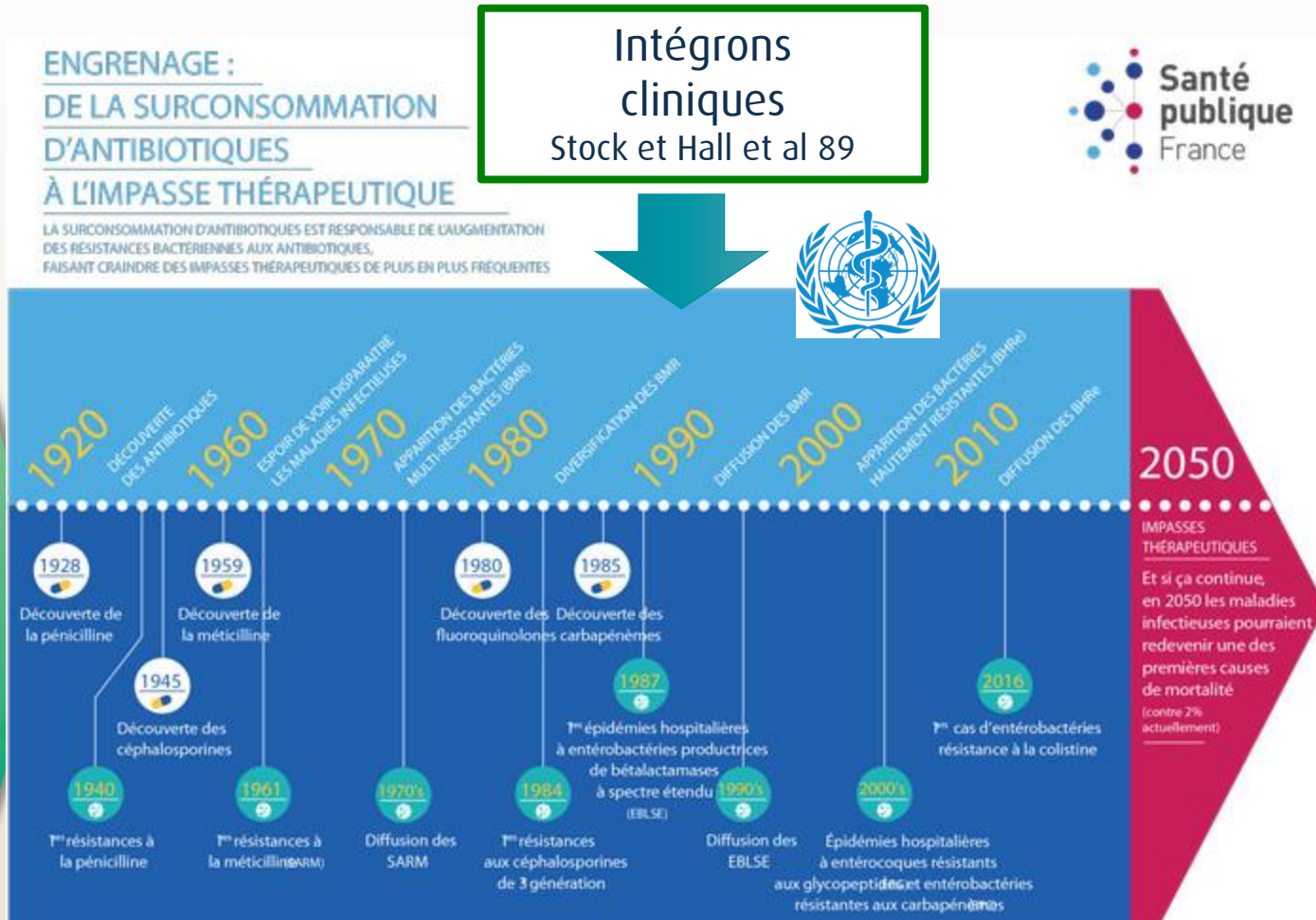


L'antibiorésistance dans les rivières anthropisées : vecteurs, réservoirs, persistance et risque

Anne Laure Vivant, Thierry Berthe, Elodie Guigon, Benjamin Janvier, Fabrice Alliot, Yannick Colin, Hélène Blanchoud, Thomas Thiebault, Danièle Valdes, Christophe Dagot, Nathalie Graal et Fabienne Petit

L'antibiorésistance : une pandémie silencieuse

► Impasse thérapeutique : 12 500 décès par an en France (Colomb-Cotinat M, 2012)



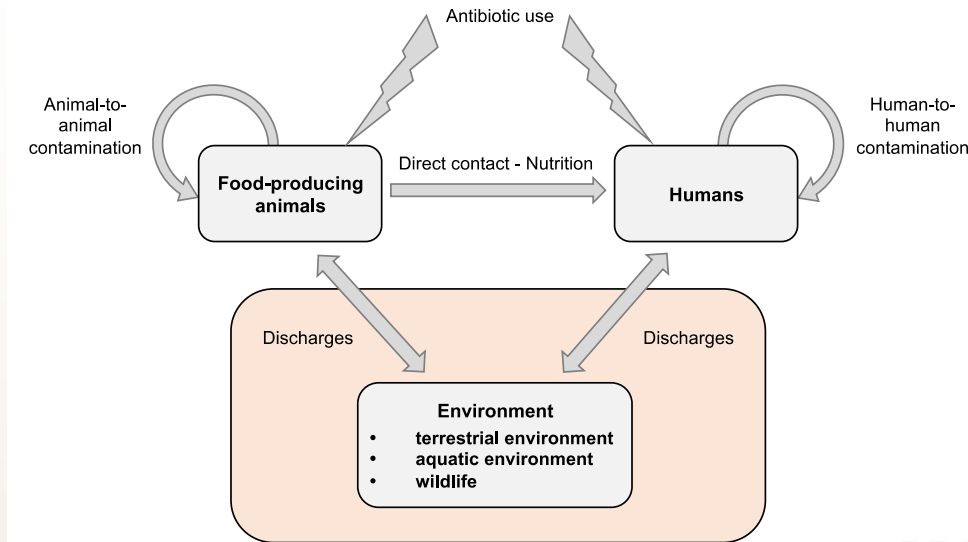
Quel est le rôle de l'environnement dans la dissémination de l'antibiorésistance à l'Homme ?



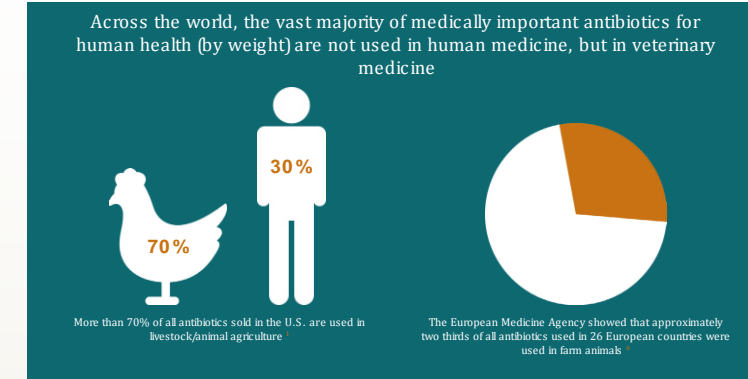
The One Health Triad



Une seule santé



Haenni et al, soumise



HCWH Europe, 2017

► Transfert de gènes des microorganismes de l'environnement à des souches pathogènes:

- la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M (gène de *Kluyvera*) Poirel et al, 2002
- la résistance aux quinolones (gène *qnrA* de *Shewanella*) , Poirel et al, 2005

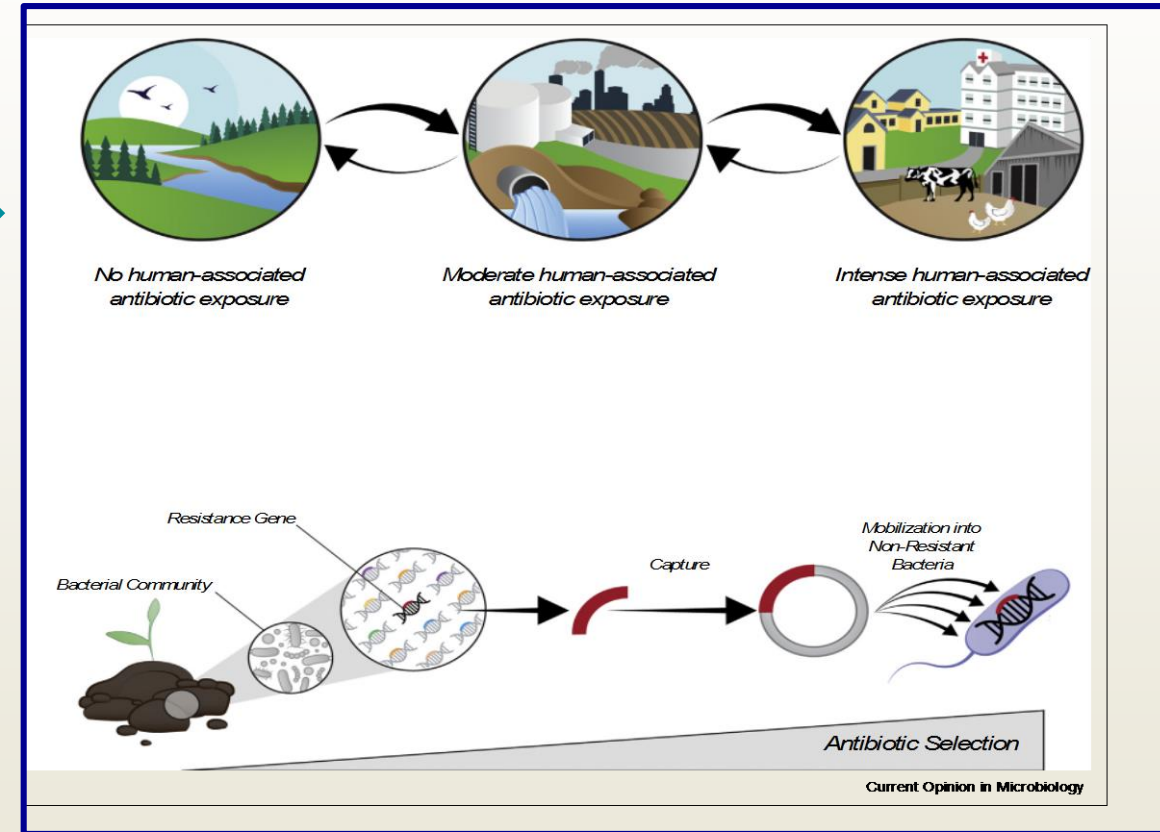
► Transfert de gènes d'origine clinique à des bactéries de l'environnement, pathogènes opportunistes pour l'Homme (ex: *Pseudomonas*)

Rôle de l'environnement dans la dissémination de l'antibiorésistance

Des sites favorables (Hot Spot)

Multi -exposition à des contaminants chimiques et à des concentrations sub-inhibitrices en ATB

Transfert de gènes de résistance

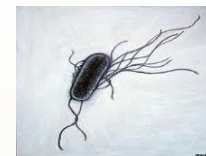


➤ Les biofilms et les sédiments

Marqueurs de la dissémination de l'antibiorésistance dans l'environnement

Une seule santé

Un marqueur commun *Escherichia coli*



Escherichia coli
Gram négatif
 γ -proteobacteria

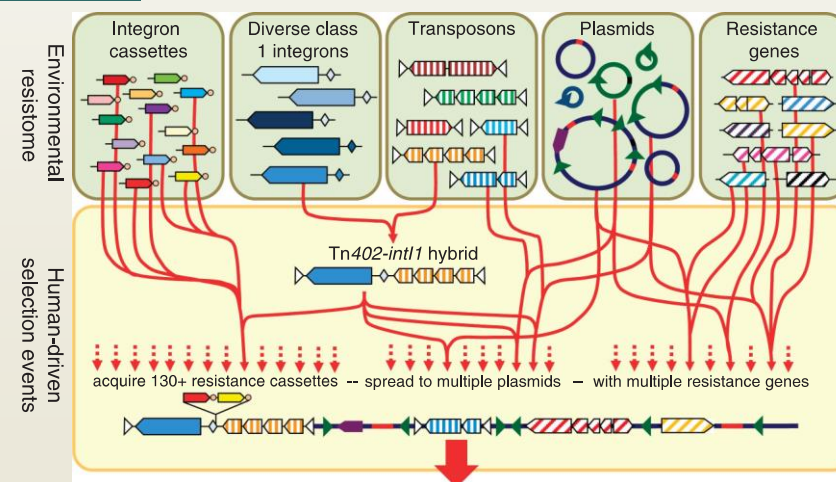


- Profil phénotypique de sensibilité à un même panel d'antibiotiques (Union Européenne)
- *E. coli* résistant au céphalosporine de 3^{ème} génération (OMS, 2017, recommandations ANSES 2020)



Les intégrons cliniques

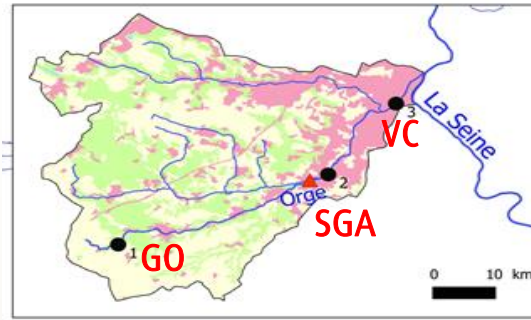
- Supports génétiques impliqués dans la multirésistance
- Contaminants xénogénétiques, (Gillings 2015)
- Recommandation ANSES 2020 : Intégron clinique *Int1* et *su1*



Association of a single DNA sequence variant of *int1* with diverse xenogenetic elements, each composed of a mosaic of plasmids, transposons and resistance determinants

Marqueurs de la dissémination de l'antibiorésistance dans les sédiments superficiels

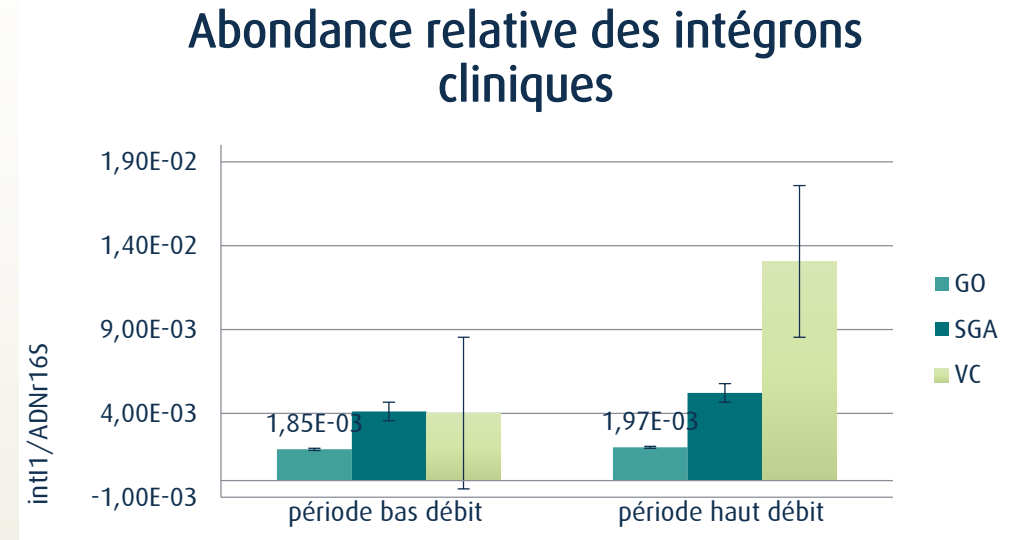
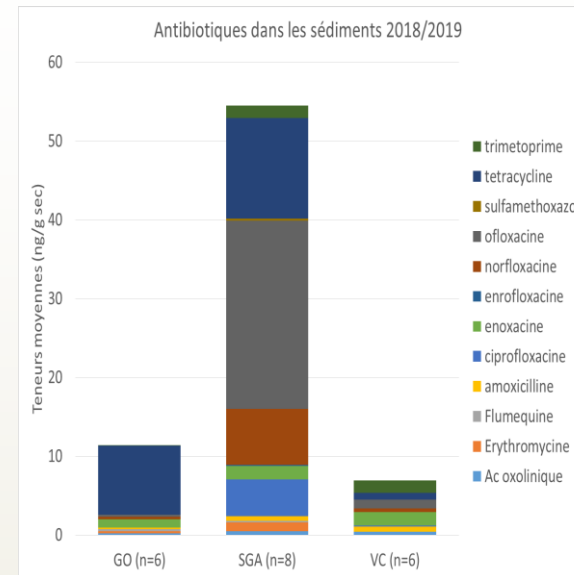
Bassin versant de l'Orge



GO: Gué d'Orge
SGA: Saint-Germain-lès-Arpajon
VC: Viry-Châtillon

Bassin de l'Orge

● Points de prélèvement
▲ station d'épuration
— Rivières
Occupation du sol
Territoires artificialisés
Territoires agricoles
Forêts et milieux semi-naturels



9 campagnes , triplicat biologique et triplicat analytique

- Contamination plus élevée en ATB sur le site de SGA mais une abondance plus importante d'intégrons dans l'ADN total extrait des sédiments de VC.
- Alors que les fluoroquinolones est la famille d'antibiotiques prédominante dans les sédiments seuls 4 / 394 isolats sont résistants à la norfloxacine ou ciprofloxacine

Sur des temps longs: maintien des antibiotiques les plus persistants mais pas des intégrons cliniques



Year

2008

2002,8

1998,4

1991,4

1989

1985,7

1983,3

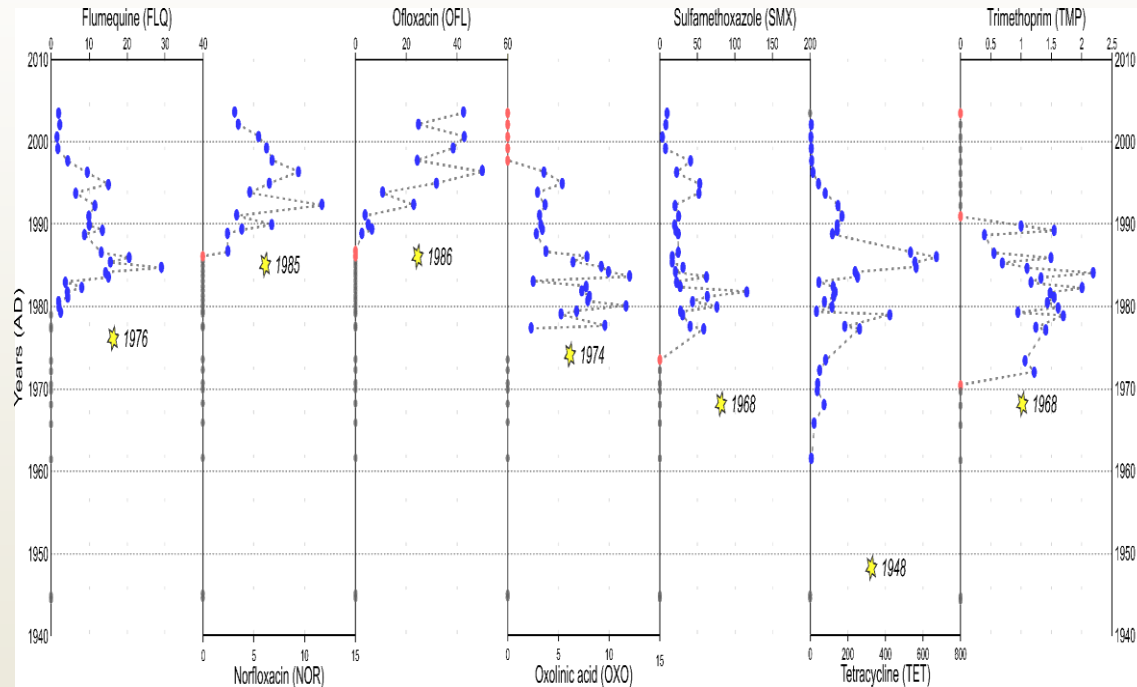
1980,9

1976,4

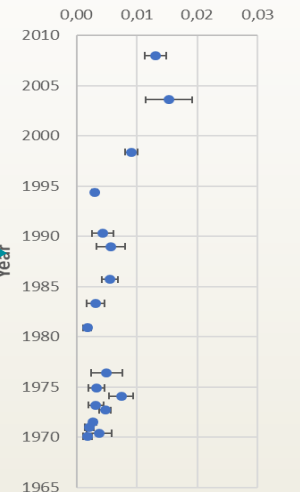
1974,1

1971

1970,1



int11 / 16S rDNA copies



Stock et Hall ,89

Diminution de l'abondance relative de intégrons cliniques de classe 1

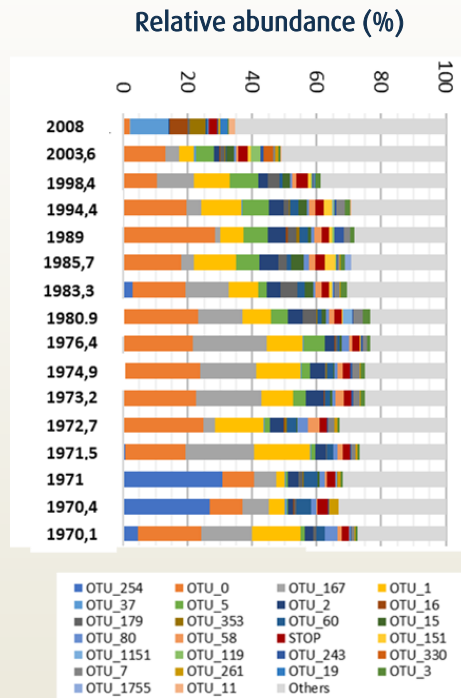
Kaci et al, 2012, 2014
Thiebault et al, 2021

Collaboration  **Inserm**
La science pour la santé
From science to health

La diversité des intégrons des communautés bactériennes reflète l'exposition aux contaminants

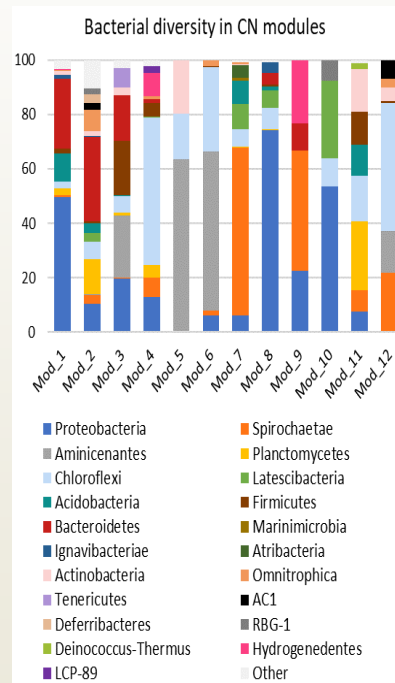
Year
2008
2002,8
1998,4
1991,4
1989
1985,7
1983,3
1976,4
1973,2
1980,9
1972,7
1971,5
1971
1970,4
1976,4
1974,1
1971
1970,1

Diversity of integrons along the core

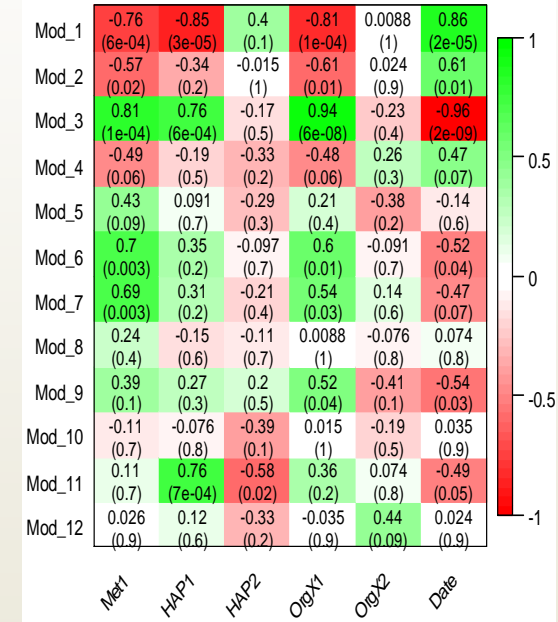


4383 integrons were identified along the sediment core

Positive interactions between bacterial taxa and integrons along the sediment core (modules shown in different colors)



Correlations between bacterial taxa, integrons and contaminant concentrations



Spearman correlations between module eigenvectors of sediment core and chemical pollution

Thèse Cynthia Oliveira coll. C. Cagnon IPREM CNRS

La Seine et l'Orge instrumentées en pièges à biofilms

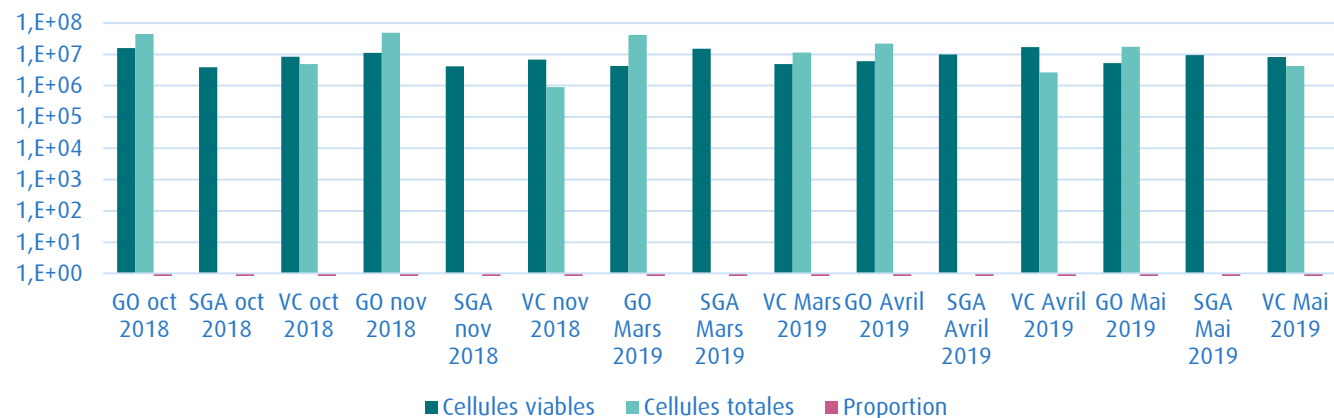


5 carreaux de granit
(20x20x2 cm)



Gué d'Orge	Saint Germain les Arpajon	Viry Chatillon
48° 30' 49,02" N 1° 56' 44,24" E	48° 35' 43,46" N 2° 15' 39,7" E	N48° 40' 37,4" E002° 21' 40,8"

Abondance en bactéries viables (nb cellule/cm²) et ADNr 16S (nbre de copies /cm²)

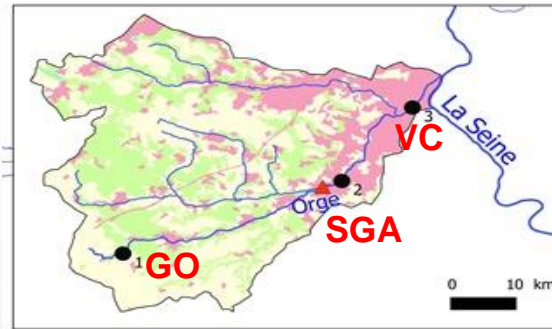


➤ Une colonisation effective et stable à partir de 2 mois d'immersion

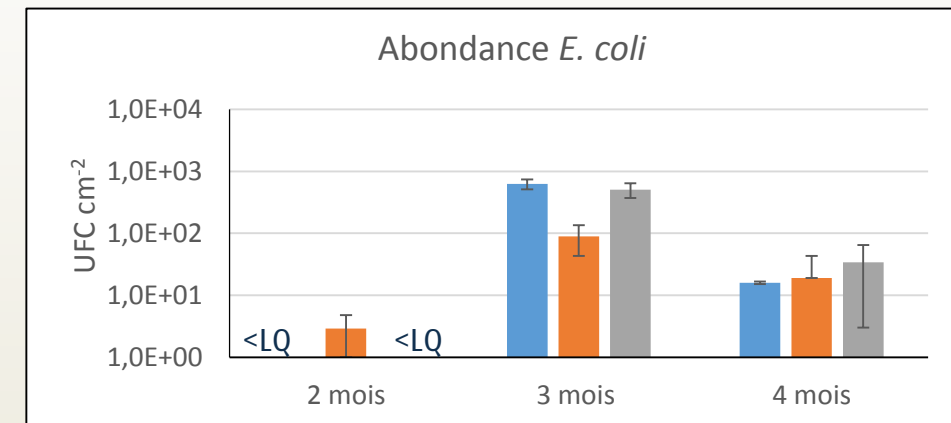
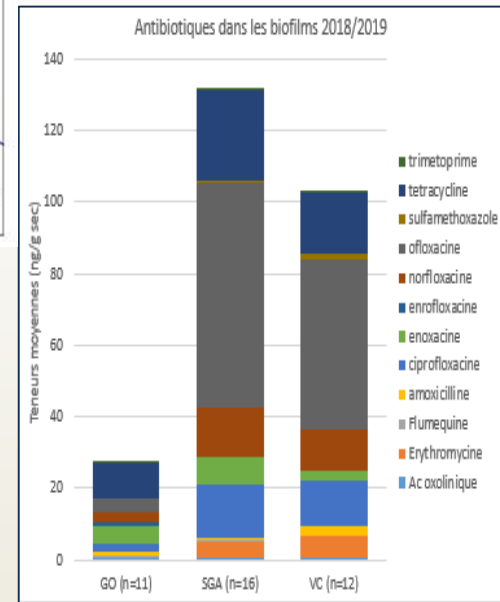
9 campagnes , triplicat biologique et triplicat analytique

Rôle des biofilms dans la dissémination de l'antibiorésistance ?

Bassin versant de l'Orge



GO: Gué d'Orge
SGA: Saint-Germain-lès-Arpajon
VC: Viry-Châtillon



GO SGA VC

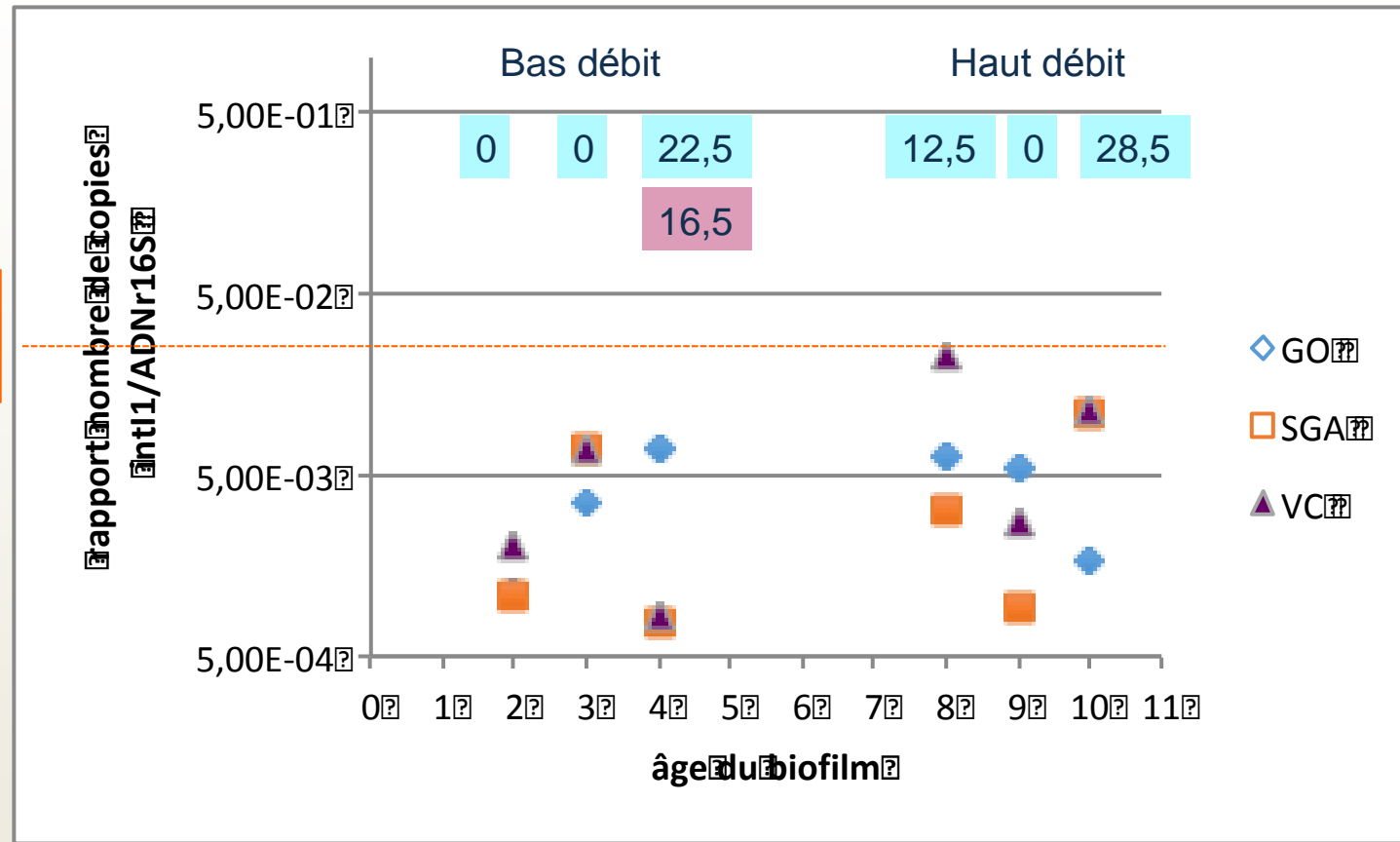
- Les fluoroquinolones, tétracycline et l'érythromycine sont majoritairement détectées
- Les *E. coli* dont des isolats portant des intégrons sont piégées au sein de ces biofilms
- La proportion maximale de bactéries résistantes à au moins 1 ATB (VC: 17,7 ±6,7 %)
- 1 isolat (/406) résistant Norfloxacine et ciproflaxine

Présence des intégrons cliniques dans les biofilms: quel déterminisme ?

Pluie efficace 30mm - 1 mois

Pluie efficace 30mm - 1 Jour

Moyenne Biofilm
Bouygival Triel



collaboration  Inserm
La science pour la santé
From science to health

- Valeurs dispersées et plus faibles que celles mesurées en Seine
- A priori aucune relation avec le débit et la pluviométrie

Les biofilms un milieu réactif et résilient :

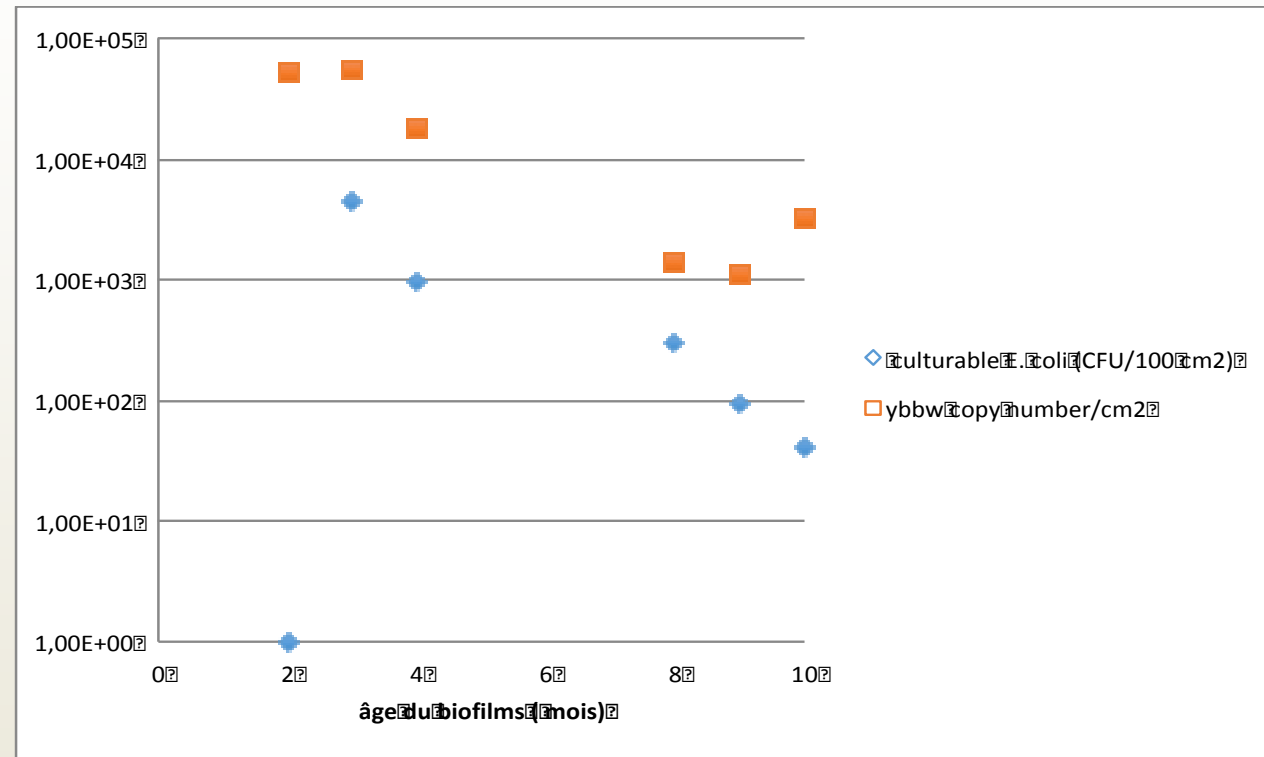
Bassin versant de l'Orge



GO: Gué d'Orge
SGA: Saint-Germain-lès-Arpajon
VC: Viry-Châtillon

Rejet de bactéries fécales pendant les 2 premiers mois (événement pluvieux extrême : orage 11 juin 2018, réparation en octobre 2018)

site amont de Gué d'Orge



- Les intégrons cliniques , et les *E. coli* ne s'accumulent pas au cours du temps au sein de l'ADN extrait des biofilms
- *Analyse métagénomique ciblée en cours (l'INSERM Limoges)*

Les Biofilms et les sédiments : des sites favorables aux transferts de gènes de résistance ?

Conclusions

- Zone de piégeage d'entérobactéries ATBr et d'intégrons cliniques
- Les bactéries ATBr, leurs génomes, y compris les intégrons cliniques ne s'y maintiennent pas « *longtemps* » dans les biofilms
- Les co sélecteurs: les antibiotiques diffèrent selon les matrices, les biofilms sont plus contaminés
- Déterminisme complexe : pluviométrie, débit, prescription, dynamique sédimentaire (VC)

Défis:

- Seuil limite de résilience?
- Combiner la notion de « hot spot » avec « hot moment »
- Temps de persistance des ATB et co sélecteurs (métaux, pesticides) ?
- Temps de résidence et transfert de gènes in situ?
- Elargir au résistome total et aux bactéries pathogènes opportunistes (*Aeromonas colin et al, 21*)
- (Impact/rôle) sur le microbiote de la faune sauvage (Thèse E.Marchand)
- Extrapolation au transect Seine

La Seine : site pilote sur la problématique et Environnement Santé



Feuille de route interministérielle:
« action 19: Renforcer et connecter les réseaux de recherche et de surveillance, et les observatoires »



Observatoire Environnement Santé

Valorisation opérationnelle des recherches



Démarche interdisciplinaire à poursuivre et à élargir

AESN



Projet FLASH



Projet DYNAPAT



P.Servais et al



Karst AESN



Karst OAK



MITI ICAR



PPR PROMISE



Banque d'échantillons et collection de 6000 souches / Données à bancariser

EAU

EAU / MES / Sédiment

Sédiment Biofilms

Faune